

Povezanost minor anomalija u shizofreniji i polimorfizama gena iz superobitelji fosfolipaza A2

An association between minor physical anomalies in schizophrenia and polymorphisms in phospholipase A2 genes

Alena Buretić-Tomljanović^{1*}, Anja Petaros², Sergej Nadalin¹, Gordana Rubeša³,
Draško Tomljanović⁴, Gordana Žauhar⁵

Sažetak. Cilj: Neurorazvojna hipoteza shizofrenije implicira abnormalnu regulaciju metaboličke kaskade arahidonske kiseline (AA), a minor anomalije (MA) navode se kao potencijalni markeri abnormalnog razvoja mozga. U radu je istražena moguća povezanost varijacija u trima genima iz superobitelji fosfolipaza (PLA2) čiji su produkti uključeni u signalni put AA s pojavom MA glave i lica u shizofrenih bolesnika. **Metode:** U istraživanje su uključena 63 ispitanika (32 žene i 31 muškarac) Klinike za psihijatriju KBC-a Rijeka s potvrđenom dijagnozom shizofrenije prema DMS-IV kriterijima. Procijenjeno je 30 varijabli koje opisuju varijacije lica, očiju, nosa, usnica, nepca, jezika i ušiju, te određen ukupan broj MA u svakog ispitanika. Polimorfizme gena PLA2G4A (rs10798059, G/A ili BlnI polimorfizam), PLA2G6A (rs4375, C/T) i PLA2G4C (rs1549637, A/T) analizirali smo PCR-RFLP metodom. **Rezultati:** Pronađena je statistički značajna povezanost između zbroja MA i PLA2G4C genotipa ($\tau_{\text{PLA2G4C}} = 0,214$; $P = 0,014$) pri čemu je medijan zbroja MA bio najviši u TT homozigota i iznosio 13 (raspon od 10 do 16). Također smo utvrdili statistički rubno značajnu interakciju PLA2G4A i PLA2G6A genotipova, pri čemu je najviši medijan zbroja MA nađen u homozigota GG/CC (14; raspon od 10 do 22), odnosno u odsutnosti PLA2G4A-A ili PLA2G6A-T alela ($P = 0,058$). **Zaključak:** Rezultati upućuju na moguću povezanost varijacija u genima uključenim u rani razvoj živčanog sustava s pojavom MA glave i lica u shizofrenih bolesnika.

Ključne riječi: gen PLA2G4A, gen PLA2G4C, gen PLA2G6A, genetički polimorfizmi, minor anomalije, shizofrenija

Abstract. Aim: The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia implicates abnormal regulation of the arachidonic acid (AA) metabolic cascade while minor physical anomalies (MPAs) are indicated as a potential markers of abnormal brain development in patients with schizophrenia. We tested whether risk for MPAs was associated with variations in three genes of phospholipase A2 (PLA2) superfamily as PLA2s play an important role in signaling pathway of AA. **Methods:** 63 patients (32 females and 31 males) from the Psychiatry Clinic, Clinical Medical Centre Rijeka, were recruited for this study; the diagnosis of schizophrenia was confirmed using DSM-IV criteria. We investigated 30 MPAs of the head and face regions, and correlated their total number with genotype and allelic variants of polymorphisms in genes PLA2G4A (rs10798059, G/A or BlnI polymorphism), PLA2G6A (rs4375, C/T variation) and PLA2G4C (rs1549637, A/T variation). Genotyping was performed by PCR-RFLP method. **Results:** Significant correlation was found between MPA total score and PLA2G4C genotype ($\tau_{\text{PLA2G4C}} = 0,214$; $P = 0,014$); the highest median was found in TT homozygotes (13; range=10-16). A trend for synergistic effect of two polymorphisms, each one in PLA2G4A and PLA2G6A genotypes, was also detected. The highest MPA score median was found in GG/CC homozygotes (14; range=10-22; $P = 0,058$) or in the absence of PLA2G4A-A and PLA2G6A-T alleles. **Conclusions:** The results suggested possible association between particular variations in the genes crucial during early development of central nervous system (genes of the PLA2 superfamily) with higher total number of MPAs of the head and face.

Key words: gene PLA2G4A, gene PLA2G4C, gene PLA2G6A, genetic polymorphisms, minor physical anomalies, schizophrenia

¹Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

²Zavod za sudsku medicinu, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

³Klinika za psihijatriju, Klinički bolnički centar, Rijeka

⁴Tomljanović d.o.o., društvo za obavljanje medicinske djelatnosti iz područja psihijatrije, Rijeka

⁵Zavod za fiziku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci

Primljeno: 2. 2. 2010.

Prihvaćeno: 9. 4. 2010.

Adresa za dopisivanje:

***Prof. dr. sc. Alena Buretić-Tomljanović, dipl. ing.**

Zavod za biologiju i medicinsku genetiku, Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci, Braće Branchetta 22, 51 000 Rijeka
e-mail: alena@medri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

UVOD

Minor anomalije (MA) ili odstupanja od normalne morfogeneze smatraju se blagim neurorazvojnim poremećajima. MA nastaju tijekom prvog i drugog tromjesečja trudnoće, a u bolesnika sa shizofrenijom MA nađu se u značajno većem broju negoli u zdravoj, psihijatrijski neliječenoj populaciji^{1,2}. MA zahvaćaju lice, oči, uši, usnu šupljinu, ruke i stopala, a u njihovoj etiologiji pretpostavljeni su utjecaji genetičkih i epigenetičkih čimbe-

Neurorazvojna i neuroprijenosna hipoteza shizofrenije pretpostavljaju da određeni genetički i okolišni čimbenici uvjetuju poremećaje razvoja mozga i rezultiraju disfunkcionalnim prijenosom monoaminergičkih signala povezanih s pojavom bolesti. Abnormalna regulacija metaboličke kaskade arahidonske kiseline predložena je kao biokemijski marker za abnormalan rani razvoj mozga i implicirana je u etiologiji Alzheimerove bolesti, bipolarnog afektivnog poremećaja i shizofrenije.

nika. MA se većom učestalošću javljaju i u zdravih rođaka osoba oboljelih od shizofrenije, što upućuje na nasljednu komponentu tih anomalija. Prisutnost MA, naročito u kraniofacijalnom području, povezuje se i s ranim poremećajima razvoja mozga zbog bliske povezanosti razvoja mozga i lica između 6. i 12., pa sve do 16./17. tjedna gestacije. U tom se kontekstu MA mogu smatrati dijelom sindroma shizofrenije³. Dosad je istražena moguća povezanost MA i *Val/Met* polimorfizma u genu *COMT* (genu za katehol-O-metil transferazu) koji je gen kandidat za podložnost pojavi psihotičnih epizoda. Joo i sur.⁴ u tom istraživanju nisu utvrdili povezanost *Val/Met* genotipa i ukupnog zbroja MA u uzorku od 214 bolesnika s dijagnozom shizofrenije, kao niti u kontrolnom uzorku od 238 zdravih osoba. Ti su autori koristili modificiranu Waldropovu metodu evaluacije MA kojom su procijenili prisutnost ili odsutnost 15 MA u kraniofacijalnom području, te na rukama i stopalima.

Budući da su MA mogući markeri abnormalnog razvoja mozga i s obzirom na neurorazvojnu hipotezu shizofrenije³, u ovom smo istraživanju odlučili ispitati postoji li povezanost određenih varija-

cija u genima čiji su produkti uključeni u signalni put arahidonske kiseline (20:4n-6, AA) s pojavom MA. Abnormalna regulacija metaboličke kaskade AA predložena je kao biokemijski marker za abnormalan rani razvoj mozga i implicirana je u etiologiji Alzheimerove i drugih neurodegenerativnih bolesti, bipolarnog afektivnog poremećaja i shizofrenije⁵⁻⁸. Neurorazvojna i neuroprijenosna hipoteza shizofrenije pretpostavljaju da određeni genetički i okolišni čimbenici uvjetuju poremećaje tijekom razvoja mozga i rezultiraju disfunkcionalnim prijenosom monoaminergičkih signala, povezanih s pojavom bolesti⁹.

Otpuštanje AA sa sn-2 položaja u molekulama membranskih fosfolipida događa se tijekom dopaminergičkog i glutamatnog prijenosa signala^{10,11}, rasta neurita i dendrita¹², nastanka memorije i sinaptogeneze⁸, a kataliziraju ga enzimi iz superobitelji fosfolipaza A2 (PLA2). Enzimi iz PLA2 obitelji brojni su i mogu se razvrstati u 15 različitih skupina i pet podtipova¹³. Mnoge njihove funkcije još su nedovoljno istražene. PLA2 enzimi ključni su u nizu fizioloških procesa u organizmu i mozgu: moduliraju upalne procese, sudjeluju u procesima stanične signalizacije, održavaju lipidnu homeostazu i integritet membrana regulirajući sastav i omjer dugolančanih masnih kiselina i dr¹⁴. Ipak, čini se da je za učinkovitu kaskadu AA u mozgu neophodna interakcija nekoliko enzima iz PLA2 obitelji, ponajprije iz skupina 4A, 2A i 6A¹⁵. AA i ostale dugolančane polinezasićene masne kiseline otpuštene iz membranskih fosfolipida mogu se metabolizirati drugim enzimima (ciklo-oksigenaze, lipoksigenaze, enzimi iz skupine citokroma P450) u niz produkata koji sudjeluju u moduliranju upalnih procesa^{16,17}. Nedavna studija u hrvatskoj populaciji uputila je na udruženost varijacije u genu *PLA2G4A* i varijabilne kliničke ekspresije shizofrenije¹⁸. Najnovija studija u kineskoj populaciji također upućuje na značajnu udruženost varijacija gena *PLA2G7* (*PAF-AH* engl. *platelet-activating factor-acetylhydrolase*) i *PNPLA8* (engl. *patatin-like phospholipase domain-containing protein 8*) i kliničkih simptoma shizofrenije¹⁹.

Abnormalnosti membranskih fosfolipida u neuronima ali i perifernim stanicama dobro su poznate iz znanstvene literature^{5,20,21}. S obzirom na neuro-

razvojnu hipotezu shizofrenije i ulogu enzima PLA2 u razvojnim procesima, u našem smo istraživanju ispitali moguću povezanost polimorfizma triju gena iz superobitelji fosfolipaza A2: *rs10798059* u PLA2G4A (G/A), *rs4375* u PLA2G6A (T/C) i *rs1549637* u PLA2G4C (A/T) s pojavom MA glave i lica u bolesnika sa shizofrenijom. Ranije asocijacijske studije navedene su polimorfizme povezale s genetičkim rizikom za pojavu shizofrenije u kineskoj^{22,23}, korejskoj²⁴ i brazilskoj populaciji²⁵, dok u europskim populacijama^{26,27}, kao i hrvatskoj, nije utvrđena takva povezanost¹⁸.

ISPITANICI I METODE

U istraživanje su uključena 63 ispitanika (32 žene i 31 muškarac) s potvrđenom dijagnozom shizofrenije prema DMS-IV kriterijima. Ispitanici su hospitalizirani u Klinici za psihijatriju Kliničkog bolničkog centra Rijeka zbog akutizacije shizofrenije. Prije evaluacije MA i uzimanja uzorka krvi upoznati su s postupkom i svrhom istraživanja te su potpisali informirani pristanak. Istraživanje je provedeno uz potporu Etičkih povjerenstava Kliničkog bolničkog centra Rijeka i Medicinskog fakulteta u Rijeci. U uzorak nismo uvrstili ispitanike s mentalnim ili neurološkim poremećajima, one s prethodnom traumom glave ili cerebralnim insultom, kao niti bolesnike u kojih se dotad javila samo jedna psihotična epizoda. Srednja dob ispitanika u trenutku evaluacije MA ($x \pm SD$) bila je $40,38 \pm 12,40$ ($38,55 \pm 12,65$ u muškaraca i $42,16 \pm 12,07$ u žena), a srednja vrijednost duljine trajanja bolesti iznosila je $15,29 \pm 11,09$ godina ($14,29 \pm 10,90$ u muškaraca i $16,29 \pm 11,37$ u žena). Srednja dob ispitanika niti trajanje bolesti nisu se značajno razlikovali među spolovima.

MA su evaluirane prema modificiranoj skali Lane i sur.²⁸ Ukupno je procijenjeno 30 varijabli koje opisuju asimetriju i varijacije lica, očiju, nosa, usnica, nepca, jezika i ušiju. Analizirane varijable i metode procjene zbroja MA opisane su u našem prethodnom radu²⁹. Medijan zbroja MA iznosio je 9 (raspon 2 – 22). U muškaraca je vrijednost medijana bila 10 (raspon 3 – 22), a u žena 7 (2 – 16). Razlika između spolova je statistički rubno značajna (Man-Whitney U-test, $P = 0,057$).

Analiza genotipova na trima lokusima provedena je metodom PCR-RFLP^{18,22}. Kontrolna skupina u

kojoj su analizirane minor anomalije opisana je u prethodnom radu²⁹, ali u toj skupini nije bilo moguće prikupiti uzorke krvi radi genotipizacije.

Povezanost genotipova i alela s ukupnim zbrojem MA analizirali smo Kruskal-Wallisovim (za usporedbu prema genotipu) i Man-Whitneyjevim U-testom (za usporedbu prema prisutnosti ili odsutnosti alela u genotipu), te izračunavanjem Kendallovih koeficijenata korelacije. Moguće interakcije genotipova na dvama analiziranim polimorfim mjestima testirali smo multivarijantnom analizom varijance (MANOVA).

REZULTATI

Kruskal-Wallisovim i Man-Whitneyjevim dvosmjernim U-testom nismo utvrdili statistički značajne razlike u zbroju MA s obzirom na genotip, ili prisutnost ili odsutnost pojedinoga alela u genotipu. Kendallov koeficijent korelacije pokazao je statistički značajnu vrijednost u slučaju PLA2G4C genotipa ($\tau_{PLA2G4C} = 0,214$; $P = 0,014$). TT homozigoti imaju najviši medijan zbroja MA u uzorku (13; raspon = 10 – 16). Varijabilan PLA2G4C genotip (AA, AT, TT) opisao je 4,6 % ($\tau^2 = 0,457$) varijabilnosti ukupnog zbroja MA u našem uzorku.

Ispitivanjem mogućeg sinergističkog učinka istraženih polimorfizama utvrdili smo statistički rubno značajnu interakciju PLA2G4A i PLA2G6A genotipova ($P = 0,058$). Dvostruki homozigoti GG/CC na PLA2G4A i PLA2G6A lokusima imaju najviši medijan zbroja MA (14; raspon 10 – 22). Analizom pomoću MANOVE dobili smo isti rezultat: najviši srednji zbroj MA nađen je u dvostrukih homozigota GG/CC ($15,00 \pm 5,03$; $F = 14,343$; $P < 0,001$), dok je u ostalim kombinacijama vrijednost zbroja MA bliska srednjoj vrijednosti čitave skupine.

RASPRAVA

Shizofrenija je duševna bolest bez jasno definirane patofiziologije s mogućom neurorazvojnou i neurodegenerativnom komponentom. Uloga mnogobrojnih enzima iz superobitelji PLA2 indicirana je tijekom ranog embrionalnog razvoja mozga i živčevlja. Aktivnost PLA2 enzima u mozgu štakora najviša je 12. dana gestacije, nakon čega se smanjuje i zadržava bazalnu aktivnost tijekom postnatalnog razdoblja³⁰. Rana PLA2 aktivnost zabilježena je i u primarnim kulturama embrionalnih

neurona korteksa štakora, što upućuje na to da bi enzimi PLA2 mogli imati ulogu u staničnom preživljavanju neurona i stvaranju brojnih ogranaka aksona⁸. Aktivnost PLA2 kaskade ključna je za sposobnost neurona da odgovori na vanjske signale te za sposobnost preraspodjele elemenata citoskeleta. Štoviše, prema studiji Forlenze i sur.⁸ za normalan je razvoj kortikalnih i neurona hipokampusa u staničnoj kulturi bio neophodan funkcionalni integritet i kalcij-ovisnih i kalcij-neovisnih PLA2 enzima. Membranski fosfolipidi glavni su

Aktivnost fosfolipaza A2 zabilježena je u primarnim kulturama embrionalnih neurona korteksa štakora, što upućuje na to da bi fosfolipaze A2 mogle imati ulogu u staničnom preživljavanju neurona i stvaranju brojnih bočnih ogranaka aksona. Aktivnost PLA2 kaskade ključna je za sposobnost neurona da odgovori na vanjske signale te za sposobnost preraspodjele elemenata citoskeleta.

izvor signalnih molekula – dugolančanih polinezasićenih masnih kiselina. Membranski fosfolipidi neurona i drugih stanica u mozgu obiluju dugolančanim, polinezasićenim masnim kiselinama, a naročito dokozaheksaenskom kiselinom (22:6n-3, DHA). Ona čini > 17 % težine svih masnih kiselina u mozgu²⁰. Osim nje važna je i AA, no čini se da je za pravilnu funkciju membranskih sustava u stanici ključan upravo omjer zastupljenosti pojedinih dugolančanih masnih kiselina. Enzimi iz superobitelji PLA2 kataliziraju otpuštanje molekula dugolančanih masnih kiselina sa sn-2 položaja molekula fosfolipida tijekom prijenosa živčanih signala, čime ujedno nastanu toksične molekule lizofosfolipida. Otpuštene masne kiseline služe kao drugi glasnici ili se metaboliziraju u eikozanoide i druge spojeve¹⁵. Metaboličke kaskade koje započinju aktivnošću enzima PLA2 uključene su, osim u dopaminergički, u serotoninergički, glutamatergički i kolinergički prijenos živčanih impulsa^{10,15}. U ranoj fazi Alzheimerove bolesti navedeni mehanizmi prijenosa ne funkcioniraju pravilno zbog nishodne regulacije kolinergičkih i glutamatergičkih receptora, što se povezuje s inhibicijom kalcij-ovisnih i kalcij-neovisnih PLA2 enzima, a rezultira slabljenjem pamćenja^{10,31}. U kasnijoj fazi bolesti

javlja se pojačana aktivnost PLA2 enzima što za posljedicu ima pojavu upale, oksidacijskog stresa i početak neurodegenerativnih promjena. Produkt gena PLA2G6A je kalcij-neovisna fosfolipaza A2 (iPLA2) koja u neuronima uglavnom otpušta DHA iz membranskih fosfolipida³², dok je produkt gena PLA2G4A citosolna, kalcij-ovisna fosfolipaza A2 (cPLA2) koja više sudjeluje u otpuštanju AA iz molekula membranskih fosfolipida²¹. Gen PLA2G4C kodira citosolni, kalcij-neovisni enzim koji je, moguće je, uključen u remodeliranje membranskih fosfolipida (vezanje različitih acilnih skupina na glicerolsku jezgru) i uklanjanje štetnih lizofosfolipida iz stanica³³. Citosolni PLA2 enzimi važni su u kolinergičkim neuronima u kojima se sintetizira kolin, prekursor acetilkolina³¹. Rezultati našega istraživanja upućuju na moguću udružnost varijanata u genima za fosfolipaze A2 s pojavom većeg broja MA u bolesnika s dijagnozom shizofrenije. Potrebno je istaknuti mogući sinergistički učinak dviju varijanata: kalcij-ovisne i kalcij-neovisne fosfolipaze A2. Bitan nedostatak našega istraživanja je mala veličina uzorka, što za posljedicu ima manji broj homozigotnih osoba na pojedinim lokusima. Na lokusu PLA2G4C učestalost TT genotipa u europskim populacijama iznosi približno 3,4 %, a u našoj populaciji 2,7 % (neobjavljeni rezultati). U našem smo uzorku pronašli samo dvije osobe toga genotipa, pa rezultate vezane za varijacije genotipa u genu PLA2G4C treba prije konačnih zaključaka provjeriti na većem uzorku ispitanika. Što se tiče PLA2G4A lokusa alel G češći je u našoj populaciji, pa se genotip GG javlja učestalošću od 37,4 %. Na PLA2G6A lokusu, genotip CC u našoj se populaciji nađe učestalošću od 20,9 %¹⁸. Rezultate kombiniranog učinka tih dvaju lokusa je, unatoč statističkoj značajnosti, također potrebno provjeriti na većem uzorku ispitanika. Drugi je nedostatak ovoga istraživanja nemogućnost genotipiziranja kontrolne skupine. Nadalje, ne treba zaboraviti niti činjenicu da je funkcija gena uključenih u metabolizam i sintezu lipida pod snažnim utjecajem okolišnih čimbenika, ponajprije prehrane³⁴. Aktivnost fosfolipaze A2 može modulirati niz drugih čimbenika poput psihoaktivnih tvari (kanabinoidi)³⁵, lijekova^{36,37}, pa čak i kognitivnih aktivnosti³⁸ ili bolesti³⁴. Neravnoteža između otpuštanja i ponovne ugradnje dugolančanih masnih kiselina u membranske fosfolipide u osnovi je neurodegenerativnih i drugih bolesti.

Studije na većim uzorcima uz kontrolu okolišnih čimbenika neophodne su kako bismo specifične varijacije u genima uključenima u rani razvoj živčanog sustava (poput gena iz superobitelji PLA2) mogli s većom sigurnošću povezati s pojavom manjih razvojnih anomalija glave i lica bolesnika sa shizofrenijom.

ZAHVALA

Rad je napravljen uz potporu MZOŠ-a (projekt br. 062-0982522-0369).

LITERATURA

- Weinberg SM, Jenkins EA, Marazita ML, Maher BS. Minor physical anomalies in schizophrenia: a meta-analysis. *Schizophr Res* 2007;89:72-85.
- Lloyd T, Dazzan P, Dean K, Park SB, Fearon P, Doody GA et al. Minor physical anomalies in patients with first-episode psychosis: their frequency and diagnostic specificity. *Psychol Med* 2008;38:71-7.
- Compton MT, Walker E. Physical manifestation of neurodevelopmental disruption: are minor physical anomalies part of the syndrome of schizophrenia. *Schizophrenia Bull* 2009;35:425-36.
- Joo EJ, Jeong SH, Ahn YM, Lee KY, Chang Yoon S, Kim EJ et al. No association found between 158 Val/Met polymorphism of the COMT gene and schizophrenia with minor physical anomalies. *Psychiatry Res* 2005;15:136: 83-91.
- Yao JK, van Kammen DP. Membrane phospholipids and cytokine interakction in schizophrenia. *Int Rev Neurobiol* 2004;59:297-326.
- Mendes CT, Gattaz WF, Schaeffer EL, Forlenza OV. Modulation of phospholipase A2 activity in primary cultures of rat cortical neurons. *J Neural Transm* 2005;112: 1297-308.
- Rao JS, Ertley RN, DeMar JC Jr, Rapoport SI, Bazinet RP, Lee HJ. Dietary n-3 PUFA deprivation alters expression of enzymes of the arachidonic and docosahexaenoic acid cascades in rat frontal cortex. *Mol Psychiatr* 2007;12:151-7.
- Forlenza OV, Schaeffer EL, Gattaz WF. The role of phospholipase A2 in neuronal homeostasis and memory formation: implications for the pathogenesis of Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 2007b;114:231-8.
- Weinberger DR. Implications of normal brain development for the pathogenesis of schizophrenia. *Arch Gen Psychiatry* 1987;44:660-9.
- Schaeffer EL, Gattaz WF. Cholinergic and glutamatergic alterations beginning at the early stages of Alzheimer disease: participation of the phospholipase A2 enzyme. *Psychopharmacology (Berl.)* 2008;198:1-27.
- Rapoport SI, Basselin M, Kim HW, Rao JS. Bipolar disorder and mechanisms of action of mood stabilizers. *Brain Res Rev* 2009;61:185-209.
- Forlenza OV, Mendes CT, Marie SK, Gattaz WF. Inhibition of phospholipase A2 reduces neurite outgrowth and neuronal viability. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2007a;76:47-55.
- Su KP. Mind-body interface: the role of n-3 fatty acids in psychoneuroimmunology, somatic presentation, and medical illness comorbidity of depression. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008;17:151-7.
- Sun GY, Shelat PB, Jensen MB, He Y, Sun AY, Simonyi A. Phospholipases A2 and inflammatory responses in the central nervous system. *Neuromol Med* 2009;DOI 10.1007/s12017-009-8092-z.
- Law MH, Cotton RGH, Berger GE. The role of phospholipases A2 in schizophrenia. *Mol Psychiatr* 2006; 11: 547-56.
- Tassoni D, Kaur G, Weisinger RS, Sinclair AJ. The role of eicosanoids in brain. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008;17 Suppl 1:220-8.
- Buretić-Tomljanović A, Giacometti J, Nadalin S, Rubesa G, Vulin M, Tomljanović D. Phospholipid membrane abnormalities and reduced niacin skin flush response in schizophrenia. *Psychiatr Danub* 2008;20:372-83.
- Nadalin S, Rubeša G, Giacometti J, Vulin M, Tomljanović D, Vraneković J et al. Bn1 polymorphism of cytosolic phospholipase A2 gene is associated with age at onset in male patients with schizophrenia and schizoaffective disorder. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2008;78:351-60.
- Meng X, Kou Ch, Yu Q, Shi J, Yu Y. Schizophrenia: An association study targets phospholipase A2 genes as potential sites of susceptible genes. *Psychiat Res* 2010;175:186-7.
- Peet M. Essential fatty acids: theoretical aspects and treatment implications for schizophrenia and depression. *Adv psychiatr treat* 2002;8:223-9.
- Barbosa NR, Junqueira RM, Vallada HP, Gattaz WF. Association between Bn1 genotype and increased phospholipase A2 activity in schizophrenia. *Eur Arch Psy Clin N* 2007;257:340-3.
- Yu Y, Tao R, Shi J, Zhang X, Kou C, Guo Y et al. A genetic study of two calcium-independent cytosolic PLA2 genes in schizophrenia, *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005;73: 351-4.
- Wei J, Hemmings GP. A study of the combined effect of the CLDN5 locus and the genes for the phospholipid metabolism pathway in schizophrenia. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2005;73:441-5.
- Pae CU, Yu HS, Lee KU, Kim JJ, Lee CU, Lee SJ et al. Bn1 polymorphism of the cytosolic phospholipase A2 gene may confer susceptibility to the development of schizophrenia, *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatr* 2004;28:739-41.
- Junqueira R, Cordeiro Q, Meira-Lima I, Gattaz WF, Vallada H. Allelic association analysis of phospholipase A2 genes with schizophrenia, *Psychiatr Genet* 2004;14: 157-60.
- Price SA, Fox H, StClair D, Shaw DJ. Lack of association between schizophrenia and a polymorphism close to the cytosolic phospholipase A2 gene, *Psychiatr Genet* 1997; 7: 111-4.
- Frieboes RM, Moises HW, Gattaz WF, Yang L, Li T, Liu X et al. Lack of association between schizophrenia and the phospholipase-A₂ genes cPLA2 and sPLA2. *Am J Med Genet* 2001; 105:246-9.
- Lane A, Kinsella A, Murphy P, Byrne M, Keenan J, Colgan K et al. The anthropometric assessment of dysmorphic features in schizophrenia as an index of its developmental origins. *Psychol Med* 1997;27:1155-64.

29. Buretić-Tomljanović A, Petaros A, Nincoletti S, Rubeša G, Tomljanović D, Lekić A, Žauhar G. Povezanost kliničkih simptoma i *minor* anomalija u bolesnika s dijagnozom shizofrenije. *Medicina* 2009;45:351-7.
30. Yoshihara Y, Yamaji M, Kawasaki M, Watanabe Y. Ontogeny of cytosolic phospholipase A2 activity in rat brain. *Biochem Biophys Res Commun* 1992;185:350-5.
31. Gattaz WF, Maras A, Cairns NJ, Levy R, Förstl H. Decreased phospholipase A2 activity in Alzheimer brains. *Biol Psychiat* 1995;37:13-7.
32. Green JT, Orr SK, Bazinet RP. The emerging role of group VI calcium-independent phospholipase A2 in releasing docosahexaenoic acid from brain phospholipids. *J Lipid Res* 2008;49:939-44.
33. Yamashita A, Kamata R, Kawagishi N, Nakanishi H, Suzuki H, Sugiura T, Waku K. Roles of C-Terminal Processing, and Involvement in Transacylation Reaction of Human Group IVC Phospholipase A2 (cPLA2γ). *J Biochem* 2005;137:55-67.
34. Rapoport SI. Brain arachidonic and docosahexaenoic acid cascades are selectively altered by drugs, diet and disease. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2008; 79:153-6.
35. Smesny S, Rosburg T, Baur K, Rudolph N, Sauer H. Cannabinoids Influence Lipid-Arachidonic Pathways in Schizophrenia. *Neuropsychopharmacol* 2007;32:2067-73.
36. Bazinet RP, Rao JS, Chang L, Rapoport SI, Lee HJ. Chronic valproate does not alter the kinetics of docosahexaenoic acid within brain phospholipids of the unanesthetized rat. *Psychopharmacology* 2005;182:180-5.
37. Lee HJ, Rao JS, Ertley RN, Chang L, Rapoport SI, Bazinet RP. Chronic fluoxetine increases cytosolic phospholipase A2 activity and arachidonic acid turnover in brain phospholipids of the unanesthetized rat. *Psychopharmacology* 2007;190:103-15.
38. Talib LL, Yassuda MS, Diniz BS, Forlenza OV, Gattaz WF. Cognitive training increases platelet PLA2 activity in healthy elderly subjects. *Prostaglandins Leukot Essent Fatty Acids* 2008;78:265-9.